



TITLE:

## 第6回 近畿脳腫瘍研究会

AUTHOR(S):

---

CITATION:

第6回 近畿脳腫瘍研究会. 日本外科宝函 1978, 47(1): 126-132

ISSUE DATE:

1978-01-01

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/208241>

RIGHT:

## 第6回 近畿脳腫瘍研究会

昭和52年9月17日(土) 午後1時~5時

於 大阪グランドホテル

世話人代表 近畿大学 井 奥 匡 彦

1. flow through cyto (fluorograf) による  
脳腫瘍の生長解析

大阪医大 脳神経外科

梶川 博, 太田富雄

Montefiore 病院神経病理

河本圭司, 平野朝雄

flow through cytometry の原理, 試料調製法, 核酸染色法 (propidium iodide, acridine orange) ふれ, 脳腫瘍 (in vivo, in vitro) の生長解析における本法の有用性について述べた。〔材料並びに方法〕1) 試薬類, ①緩衝液: 0.05M Tris buffer, 25mM KCl, 5mM MgCl<sub>2</sub> (TKM) ②核酸染色色素: 0.05mg PI/ml 0.1% sodium citrate (主として DNA に結合), 9-10x10<sup>-6</sup>g AO/ml TKM (DNA と RNA に同時結合) ③0.4% trypanblue ④0.05-0.1% trypsin ⑤Ca<sup>++</sup> Mg<sup>++</sup> 不含 Earle または Hanks 液 2) 試料調製法. ①細胞浮遊液の調製: 試薬④⑤にて細胞をよく分散せしめ少くとも 1×10<sup>5</sup>個 (通常2.3×10<sup>5</sup>個) /ml TKM の浮遊液とする。②構成細胞 (全細胞, 生細胞, 死細胞別の) の大きさによる分布状態を測定するために細胞浮遊液 1ml に試薬③ 0.15ml 加え3分間染色する, ③核酸染色法: (i) PI 法では 1ml 細胞浮遊液を800g × 5分間遠心し沈渣に試薬①を 1ml 加え 4℃ 5分間反応させる。DNA-PI 結合は励起されると染色蛍光 (F>600) を発す。 (ii) AO 法では細胞浮遊液 1ml に等量の試薬①を加え 4℃ 10分間反応させる。AO-DNA 結合は緑色蛍光 (F530 max.), AO-RNA 結合は赤色蛍光 (F>600) を発す。〔結果並びに考按〕①本装置では凝集細胞塊は1個の細胞と認定される。したがって細胞分散が不良であると誤った結果をもたらす (Fig. 1)。そのため同時に細胞の大きさによる分布状態の測定並びに鏡検による観察が必要である。②高濃度長時間の trypsin 処理, 試料の冷蔵保存等の測定遅延は細胞の傷害度をたかめ核酸パターンにも影響する。③一般に良性腫瘍では1峰性, 悪性腫瘍では

2峰性もしくは多峰性の核酸パターンを得るが, 腫瘍によっては (特に glioblastoma) 試料の採取部位で著明に異なる (Fig. 2)。④ploidy の分析には正常細胞

CHRONOLOGICAL CHANGES OF DNA AND RNA PATTERNS  
OF CULTURED MENINGIOMA CELLS  
— PI-red (DNA); ..... AO-red (RNA)

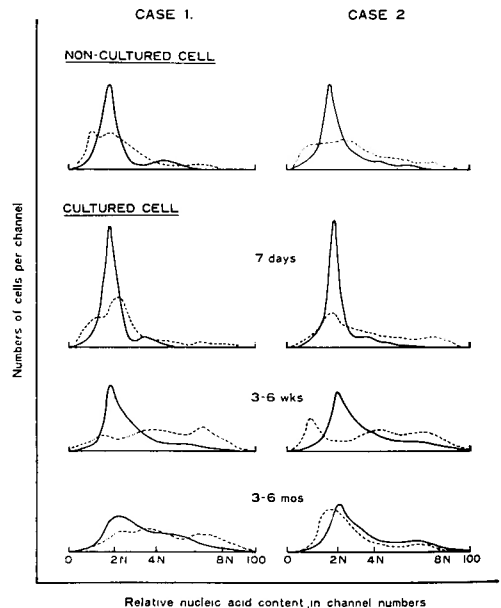


Fig. 1.

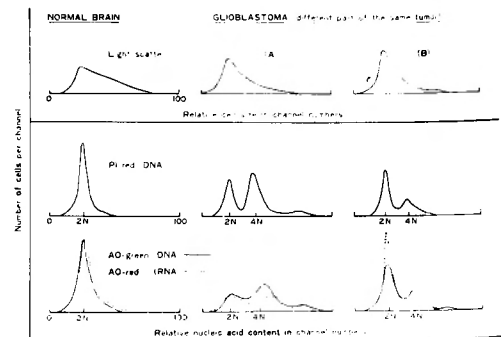


Fig. 2.

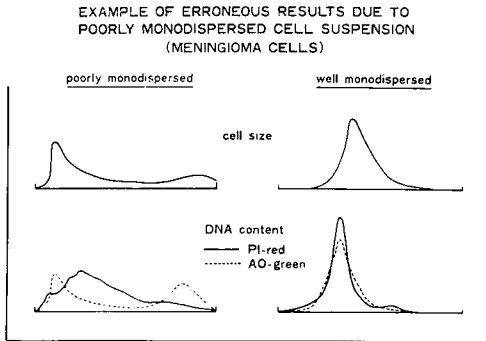


Fig. 3.

(リンパ球や正常脳)との比較が必要である。また DNA 測定には AO よりも PI が信頼性が高い。⑤ 培養細胞では継代することによって細胞の大きさ、核酸量の分布に著明な変化がみられる (Fig. 3)。

## 2. 実験的脳腫瘍の発生条件に関する研究 (II) ENU により発生した神経系腫瘍について

奈良医大 脳神経外科

乾 松司, 内海庄三郎

同がんセンター腫瘍病理

伝田阿由美, 小西陽一, 小島清秀

前回我々は, ENU を経胎盤的に投与すると, ラット胎仔脳 DNA 合成を阻害し, かつ阻害された DNA 合成の回復が遅延し, それに基づく Maturation の遅

れを誘導するが, 脳を標的としなない発癌物質である DHPN, 4-HAQO では, DNA 合成抑制の遅延がみられないことを報告した。

今回は, ENU の経胎盤投与により発生した神経系腫瘍及び脳実質内にみられた異型細胞群について報告する。

1) 方法 動物は体重 200g 前後の Wistar 雌ラットを用い, 妊娠 18, 20 日目に体重 1kg あたり 50mg の ENU を静脈内に投与した。出生後 4 週で離乳した計 169 匹を次の 3 群に分けた。第 1 群: コントロール (無処置群) 雄雌, 第 2 群: 18 日目投与群雄雌, 第 3 群: 20 日目投与群雄雌とし 10 週, 23 週, 30 週と継続的に屠殺し, 一部は Autoradiography を行い, 中性ホルマリンで固定後, H. E., PTAH, Bodian 染色等を行って組織学的に検討した。

2) 結果 各群の動物を継続的に 10, 23, 30 週に屠殺し, 発生した腫瘍及び Atypical foci の発生頻度は Table 1. に示す。10 週では, 腫瘍の発生がみられず, 23 週で 23.5-66.7%, 30 週では 90.3-100% であった。一方 foci は 10 週ですで見られ, 以後腫瘍発生頻度と, ほぼ平行して見られた。発生した腫瘍を組織別に分類した結果と, 腫瘍及び foci の一動物あたりの発生した個数を Table 2. に示す。組織別では, Oligodendroglioma が最多の約 60% を占め, 次いで Mixed glioma であった。一動物あたりの腫瘍及び foci は 3 群で 2 群より多くの発生がみられた。Atypical foci と腫瘍の発生頻度を比較し, その要約を Fig. 1 に示す。23 週では foci の発生頻度は雄, 雌それぞれ 60.9,

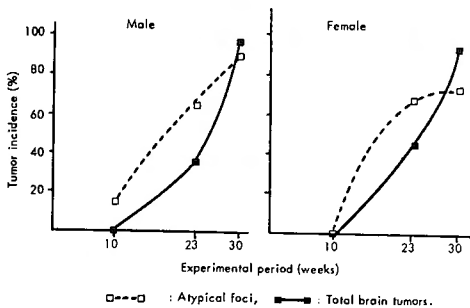
Table 1. Incidence of Tumors and Atypical foci of Rat Brain at Various weeks after Transplacental treatment of ENU

Groups	Sex	Sacrificed at								
		10 weeks			23 weeks			30 weeks		
		Effective No. of rats	Incidence (%) tumors	(%) foci	Effective No. of rats	Incidence (%) tumors	(%) foci	Effective No. of rats	Incidence (%) tumors	(%) foci
1	M	—	—	—	—	—	—	10	0	0
	F	—	—	—	—	—	—	7	0	0
2	M	7	0	1 (14.3)	6	4 (66.7)	5 (83.3)	18	17 (94.4)	16 (88.9)
	F	7	0	0	9	5 (55.6)	7 (77.8)	31	28 (90.3)	22 (71.0)
3	M	7	0	1 (14.3)	17	4 (23.5)	9 (52.9)	11	11 (100)	10 (90.9)
	F	7	0	0	16	6 (37.5)	10 (62.5)	16	16 (100)	12 (75.0)

**Table 2.** Number of Tumors and Atypical foci countered based Histological types in Brain and Spinal cord of Rats Sacrificed at 30 weeks after Transplacental treatment of ENU

Groups	Sex	No. of rats	1		2		3	
			Male	Female	Wale	Female	Male	Female
			7	7	18	31	11	16
Brain	No. of fumors		—	—	66	91	35	58
	Average No. per rat		—	—	3.7	2.9	3.2	3.6
	Oligodendroglioma		—	—	38(57.6)	50(54.9)	23(65.7)	31(53.4)
	Astrocytama		—	—	13(19.7)	9( 9.9)	3( 8.6)	17(29.3)
	Mixed glioma		—	—	10(15.1)	28(30.8)	8(22.9)	6(10.4)
	Anaplastic glioma		—	—	5( 7.6)	4( 4.4)	0( 0)	4( 6.9)
	Medulloblastoma		—	—	0( 0)	0( 0)	1( 2.8)	0( 0)
Spinal cord	No. of tumors		—	—	2	7	2	6
	Oligodendroglioma		—	—	2( 100)	3(42.9)	0( 0)	5(83.3)
	Astrocytoma		—	—	0( 0)	1(14.3)	2( 100)	1(16.7)
	Mixed glioma		—	—	0( 0)	1(14.3)	0( 0)	0( 0)
	Ependymoma		—	—	0( 0)	2(28.5)	0( 0)	0( 0)
PNS	Neurinoma		—	—	3	4	4	2
Atypical foci	No. of foci		—	—	27	39	30	38
	Average No. per rat		—	—	1.5	1.3	2.4	2.7

**Fig. 1** Comparison on Incidences of Atypical Foci and Brain Tumors induced by Placental Treatment of ENU



**Fig. 1.**

68.0%で腫瘍のそれらは、34.8,44.0%であり foci の頻度が腫瘍を上回っていた。30週ではそれらの発生頻度に著明な差は、見られなかった。

3) 結論 ENU の経胎盤投与による神経系腫瘍発生モデルは、今回の実験によって再現された。Atypical foci は腫瘍より早期に発生することが示され、更に可逆性の Atypical foci を示唆する結果は得られなかった。以上により Atypical foci は、Glioma の前駆病変であると考えられる。

### 3. 脳膜癌腫症：実験モデルの作製と化学療

## 法

阪大 脳神経外科

清水恵司，生塩之敬，早川 徹

脳膜癌腫症は、くも膜下腔に多発性、またはび慢性の癌の転移浸潤した病態をいい、癌治療の進歩と共に、この合併症の発生は増加する傾向にある。私達は、実験モデルを作製し、この疾患の治療法の基礎的研究を行なった。

腫瘍は、Wistar ラットの皮下に継代移植した Walker 256肉肉腫を使用した。実験モデルは、皮下より取り出した腫瘍を細胞浮遊液にし、27ゲージの針を用いて経皮的に Wistar ラットの大槽内に注入移植することにより作製した。動物は死亡する7日前後に体重減少が始まり、次いで四肢の weakness が生じ、末期には四肢の強直をきたして死亡した。病理学的には、脳半球外側から馬尾に至るくも膜下腔に腫瘍の浸潤がみられ、人の脳膜癌腫症にきわめて類似していた。10<sup>6</sup>個の腫瘍細胞を移植した時の median survival time (MST) は、15日前後であった。この実験モデルを用い脳膜癌腫症に対する化学療法の効果を検討した。cyclophosphamide 100mg/kg を腫瘍移植後5日目に全身投与すると、腫瘍動物 MST は、対照の13日に対し、81日以上と延長し、mean life span (MLS)

は600%以上となった。同様に CCNU 30mg/kg では、MLS は800%以上、methyl-CCNU では、MLS は168%であった。Bleomycin (BLM) 5mg/kg を腫瘍移植後5日目より、隔日に5回投与した時のMLS は188%であった。Methotrexate (MTX) を静脈内に10mg/kg、移植後5日目より週2回、計4回全身投与した時のMLS は97%であった。これに対し、髄腔内には1mg/kg 週2回、計4回持続注入した時のMLS は200%であった。

脳膜癌腫症に対し、CCNU などの血液脳関門を通る制癌剤の全身投与が最も効果のあること、cyclophosphamide, BLM などの血液脳関門を通過しない制癌剤もある程度効果のあること、MTX は髄腔内投与が有効であることが明らかとなった。私達の作製した実験モデルは、脳膜癌腫症の病態、治療の系統的研究を可能にした。

#### 4. 担グリオーママウスの免疫能

——特にkiller T cell について——

京大 脳神経外科

中尾 哲, 山下純宏, 武内重二

織田祥史, 内田泰史, 半田 肇

京都大学ウイルス研究所病理部

難波雄二郎, 花岡正男

近年、脳腫瘍患者に対し BCG 療法等の免疫療法が臨床的にもおこなわれているが、この免疫療法を効果的に利用するためには、患者の免疫応答を知ることが極めて重要である。現在、我々は担グリオーママウスをモデルに用いて、グリオーマに対する免疫応答を検索しているが、今回はこのうち killer T cell の動態について報告した。

〔方法〕 C57BL/6 マウス由来の 20-methylcholanthren 誘発 203-Glioma を株化培養し用いた。感作リンパ球の細胞障害性および免疫能の検索には、microcytotoxicity assay と adoptive transfer test を行った。

〔結果〕 1)  $10^6$ 個の腫瘍細胞を背部皮下に移植し、脾細胞による腫瘍細胞障害性を経時的に観察すると、10～14日後に最も強く、以後背部腫瘍の増大と反比例して徐々に減少した。

2) C57BL/6 マウス由来の他の腫瘍 (EL 4 thymoma) を移植したマウスリンパ球では、203-Glioma に対し細胞障害性を示さない。

3) 上記感作脾細胞よりマウス T cell 特異抗血清 (抗 Thy-1 血清) と補体処理により T cell を除去すると、腫瘍細胞障害性は消失する。

4) 担クリーママウスの脾細胞  $5 \times 10^7$  個をあらかじめ移入したマウスでは、腫瘍細胞生着率および腫瘍増大速度が、対照群と比較し明らかに抑制される。しかし、移入脾細胞より T cell を除去すると、この抑制効果の大部分が失われる。

〔結論〕 グリオーマにおいても、腫瘍特異的な killer T cell が出現し、この killer T cell が腫瘍の増大と抑制に関与していることが示唆された。今後更に、免疫療法の効果等につき詳細に検討していく予定である。

(本研究は一部厚生省ガン研究助成金によった。)

#### 5. Suprasellar germinoma 9例の下垂体機能について

京大 脳神経外科

武内重二, 大塚信一, 武部吉博

三輪聰一, 山崎俊樹, 好井 寛

半田 肇

Suprasellar germinoma 9例の血漿 cortisol, GHG, LH, FSH, TSH,  $T_3$ ,  $T_4$ , 尿中 17OHCS の測定を行なった。血漿 GHG は8例中7例が低値を示し、1例のみが正常値を示した。

視床下部一下垂体一副腎皮質機能は8例中1例が正常で他は異常を示した。16才以上の3例はすべてこの系の機能低下を示し、15才以下のうち4例は正常もしくはやや高い cortisol 値を示したが尿中17 OHCS は低値を示した。これについて考察を加えた。

下垂体—甲状腺機能は9例中2例が正常で他の7例は種々の程度の機能低下が認められた。そのうち3例は TSH の基礎値低下しているのに TRH に対する高い反応が認められた。

下垂体—性腺機能は LHRH に対する LH, FSH の反応を指標として検索したが、9例中1例が正常であり、3例がはっきりとした機能低下を示した。さらに3例が LH 又は FSH が低値を示した。興味あるのは女子のうち2例に LH 上昇, FSH 正常所見が得られたことで pubertas praecox は認められず、女子に pubertas praecox の来る条件について考察を加えた。

以上9例の suprasellar germinoma の視床下部一

下垂体—副腎皮質系機能, 下垂体—甲状腺機能, 下垂体—性腺機能について得られた所見について報告した。

## 6. 末端肥大症, 自験23例に於ける GH 分泌動態に関する検討

- 近大 脳神経外科  
 (1)阪大 脳神経外科  
 (2) 全 第4内科  
 (3) 全 中央臨床検査科  
 (4)広大 脳神経外科  
 ○渡辺 優, 黒田良太郎, 井奥匡彦  
 滝本 昇<sup>(1)</sup>金城 孝<sup>(1)</sup>, 最上平太郎<sup>(1)</sup>  
 熊原雄一<sup>(2)</sup>, 宮井 潔<sup>(3)</sup>, 魚住 徹<sup>(4)</sup>

自験23例の末端肥大症について諸負荷試験に対する血中 GH 分泌動態について検索した。対象及び研究方法: 対象は最近5年間に著者らが大阪大学脳神経外

科学教室及びその関連施設で経験した末端肥大症23例である。下垂体ホルモン測定法及び血中 GH 分泌に対する特殊負荷試験については従来, 我々が報告してきたものに従った。結果及び考按: ①対象として生理食塩水負荷を行ったが, 血中 GH の変化率は基礎値に対して±50%以内であった。②GH 分泌増加反応(+2SD 以上)は TRH 負荷で14/21例, LH-RH 負荷で6/22例の高頻度にみられた。(参照 Table 1) ③TRH 及び LH-RH 負荷に対する血中 GH の反応からみると, TRH 反応型, LH-RH 反応型及び低反応型と歴然と3群に分れた。④低反応型は5/23例で, いづれの負荷刺激にも有意の反応を示さないもの3例, ITT Arginine 負荷に増加反応, OGTT に抑制反応を示す GH 分泌様式のほぼ正常型のものが2例みられた。⑤治療によって血中 GH 値が10ng/ml 以下に低下した5例について TRH に対する反応性を治療前後で比較したものが, そのほとんどは血中 GH が低下しても, 依然その反応性は残存した。(参照 Table 2)

Table 1. Plasma GH Response in Acromegalics to various kinds of Provocation Test

Provocation	P. I. <-50%	-50%<P. I. <+50%	+50%<P. I. <+100%	P. I. >+100%
TRH	0/21 (0)	7/21 (32)	3/21 (14)	12/21 (57)
LH-RH	0/22 (0)	14/22 (64)	2/22 (10)	6/22 (29)
ITT	0/20 (0)	14/20 (70)	0/20 (0)	7/20 (30)
Arginine	0/14 (0)	11/14 (73)	2/14 (14)	2/14 (14)
L-DOPA	4/10 (40)	5/10 (50)	0/10 (0)	1/10 (10)
OGTT	1/12 (8)	9/12 (75)	2/12 (16)	0/12 (0)
CPZ	2/11 (18)	9/11 (82)	0/11 (0)	0/11 (0)
Saline	1/14 (7)	13/14 (93)	0/14 (0)	0/14 (0)

$$P. I. : \text{Percent Increase} = \left( \frac{\text{Peak} - \text{Base}}{\text{Base}} \times 100 \right)$$

( ) : %

Table 2. Plasma GH Response to TRH in Acromegalics after Treatment

Treatment	Case	Sex	Before Treatment	After Treatment
Surgery only, and surgery with Irradiation	E. T.	F.	22.5 ± 3.7 + 229%	6.4 ± 1.1 + 360%
	N. I.	F.	41.5 ± 9.5 + 99%	4.5 ± 1.1 + 80%
	N. I.	M.	14.7 ± 6.0 + 2000%	5.9 ± 2.6 + 137%
	R. K.	F.	41.2 ± 14.8 + 235%	5.7 ± 0.6 + 95%
Irradiation only	S. K.	F.	27.9 ± 15.1 + 137%	6.6 ± 1.0 + 147%

⑥ TRH 反応型 6 例に T (75 $\mu$ g/day), LH-RH 反応型 5 例に estradiol (100 $\mu$ g/day) を 1 週間連続負荷し, その前後で TRH 及び LH-RH Test を施行した. 血中 TSH 及び FSH 分泌能は全例抑制されたが, 血中 GH 分泌能は全く影響を受けなかった. (参照 Fig. 1, Fig. 2)

以上, 末端肥大症を GH 分泌動態に基づいて考察すると, これらの症例は一律のものではなくて前述の

如く種々の GH 分泌様式をもつ症候群であると考えられる. TRH 及び LH-RH 反応型の末端肥大症では何らかの原因でホルモン特異性が失われ GH 産生細胞は TRH または LH-RH のいずれかに対する receptor を獲得しつつ腫瘍発育しているかの現象が認められ, 然もこの場合, 末梢からの抑制機構を欠いているのではなかろうかと考える.

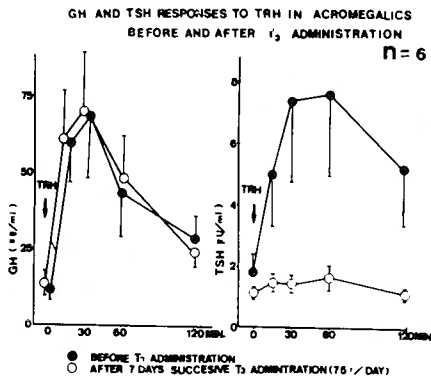


Fig. 1

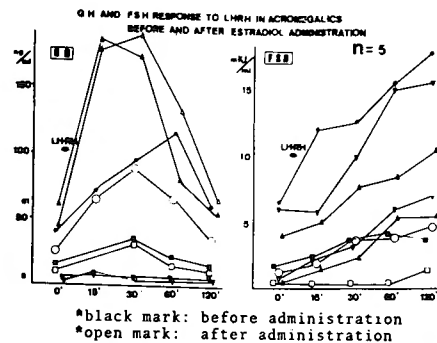


Fig. 2

## 7. 脳室内出血にて発症した新生児脳腫瘍

兵庫県子ども病院 脳神経外科

○佐藤倫子, 小林憲夫, 坂本敬三

小児脳腫瘍のなかで, 新生児期に発症するものは非常に稀である. 私共は, 最近, 生後 4 日目に発症し,

25 日目に開頭術を施行し, 術後 9 カ月の現在, 軽度の左片麻痺を残すのみの経過良好な症例を経験したので報告する. 症例は, 22 日目の男児. 周生期異常なく, 4 日目より嘔吐が出現し, 9 日目に腰椎穿刺にて, 血性髄液を認め, 12 日目よりしだいに頭囲拡大をきたしたため入院した. 入院時, 大泉門膨隆, 骨縫合離開が

Table 1. ASTROCYTOMAS in the NEWBORNS

Case	Author	Age	Sex	Signs & Symptoms	Location	Prognosis	Open
1	Leibner	(1948) at Birth	M	Enlarged Head	Midbrain	Died 4M.	—
2	DeSaussure	(1960) at Birth	M	Enlarged Head, Exophthalmus	R-Middle Fossa	Died 3D.	—
3	Sandbank	(1962) at Birth		Enlarged Head, Bloody CSF	L-Basal Ganglia	Died 1D.	—
4	Raskind	(1964) 43D.	F	Enlarged Head	3rd Ventricle	Died 58D.	+
5	Plassmann	(1971) at Birth	F	Enlarged Head	R-Cerebral	Died 58D.	+
6	Masson	(1971) 1D.	F	Convulsion	Brain Stem	Died 3W.	—
7	Jellinger	(1973) at Birth	F	Enlarged Head, Bloody CSF	R-Frontobasal	Died 3D.	+
8	O. Sato	(1975) 1M.	M		L-Lateral Ventr.	Died 2Y.	+
9	S. Kawai	(1977) 1W.	F	Enlarged Head	R-Temporal	Alive 2Y.	+
10	N. Sato	(1977) 4D.	M	Vomiting, Bloody CSF	R-Lateral Ventr.	Alive 9M.	+

あり、左の握力低下、運動低下がみられた。脳室穿刺で血性髄液を認め、脳血管写、気脳写にて、右側脳室内占拠性病変の所見を得た。25日目に開頭術にて、右側脳室内の血腫 35g とともに腫瘍を垂全摘した。組織は Astrocytoma Grade II であった。本例を含め、130報告、154症例をもとに、集計を行なった。①初発日令は、胎内を含めた生下時にすでに発症していたものが約60%を占める。②初発症候は、約63%に頭囲拡大が認められる。③血性髄液は、7.1%に認め、新生児頭蓋内出血の原因の1つとして、念頭におくべきである。④性差はない。⑤病理組織学的には Teratoma が約40%を占め、特異的であり、次に、Neuroectodermal origin のものが合わせて40%を占める。⑥局在場所は、テント上腫瘍が多く、64.3%を占めかつ巨大なものが多い。⑦脳腫瘍直達手術を行なわない症例の予後は悪く、3カ月以内の死亡が、全体の90%に及び、1才未満で全例死亡している。直達手術を行な

Table 2. BLOODY CSF in the NEONATAL BRAIN TUMORS

	Cases	Location
ASTROCYTOMA	3	R-Fronto basal L-Basal Ganglia R-Lateral Ventricle
EPENDYMOMA	3	R-Lateral Ventricle 4th Ventricle 3rd Ventricle
TERATOMA	2	L-Base 3rd Ventricle
GLIOBLASTOMA	1	Basal Ganglia
CHOROID PLEXUS	1	R-Lateral Ventricle
PAPILLOMA HEMANGIO- PERICYTOMA	1	R-Cerebral Hemisphere
TOTAL		11/154 (7.1%)

Table 3. HISTOLOGICAL CLASSIFICATIONS in the NEONATAL BLAIN TUMORS

	AT BIRTH	-1W.	-4W.	-8W.	TOTAL	
TERATOMA	43	3	6	10	62	39.3
MEDULLOBLASTOMA	6	1	3	3	13	8.2
EPENDYMOMA	4	2	2	3	11	6.9
ASTROCYTOMA	5	3	1	1	10	6.3
GLIOMA unverified	4	1	3	1	9	5.7
CHOROID PLEXUS PAPILLOMA	4	0	2	2	8	5.1
CRANIOPHARYNGIOMA	6	1	0	0	7	4.4
SARCOMA	2	0	2	3	7	4.4
MENINGIOMA	3	1	1	1	6	3.8
GLIOBLASTOMA MULTIFORME	3	0	2	0	5	3.2
OTHERS	14	2	2	2	20	12.7
TOTAL	94*	14	24*	26	158*	100(%)

った例では、しだいに長期生存例も出て、早期診断が重要である。⑧新生児脳腫瘍と先天異常の合併は、7.8%あり、小児における合併率より、明らかに高い、⑨新生児期（生後60日以内）に発症した Astrocytoma は10例あり、うち3例に血性髄液を認め、しだいに2年以上の長期生存例も報告されている。⑩後年発症す

る脳腫瘍の発生源を追求しうる可能性があり、新生児脳腫瘍の詳細な組織学的研究が、重要と考える。

8. 特別講演

抗腫瘍物質の作用機序について最新の知見  
近畿大学細菌学 南地幹雄